

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Mainz

(Komm. Direktor: Prof. Dr. E. Muscholl)

Über die Wirkung von Theophyllin auf die
⁴⁵Ca-Aufnahme am Meerschweinenvorhof
in Abhängigkeit von der Zeit.

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen
Medizinischen Fakultät der Johannes Gutenberg-
Universität Mainz

vorgelegt von

Raimund Müller

aus

Laurenburg/Rhein-Lahn-Kreis

Mainz 1972

1973

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Mainz

(Komm. Direktor: Prof. Dr. E. Muscholl)

Über die Wirkung von Theophyllin auf die
⁴⁵Ca-Aufnahme am Meerschweinchenvorhof
in Abhängigkeit von der Zeit.

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen

Medizinischen Fakultät der Johannes Gutenberg-

Universität Mainz

vorgelegt von

Raimund Müller

aus

Laurenburg/Rhein-Lahn-Kreis

Mainz 1972



Fachbereichs-Dekan: Prof. Dr. med. R. Wolf

Referent: Prof. Dr. med. H. Scholz

Korreferent: Prof. Dr. rer. nat. U. Wollert

Tag der münd-

lichen Prüfung: 27. 6. 1973

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

$[Ca]_e$	: extracelluläre Calcium-Ionenkonzentration
MSV	: Meerschweinchenvorhof
SR	: Sarkoplasmatisches Retikulum
FG	: Feuchtgewicht
Dpm	: Zerfälle/Minute
RSA	: Relative spezifische Aktivität
min, msec	: Minute, Millisekunde
mC	: Millicurie
g, mg	: Gramm, Milligramm
M, mM	: Mol, Millimol im Zusammenhang mit Volumen- und Gewichtsangaben, sonst molar bzw. millimolar
l, ml	: Liter, Milliliter
Hz	: Hertz = Impulse/Sekunde
$\mu\text{Äq}$, nÄq	: Mikroäquivalent, Nanoäquivalent

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. EINFÜHRUNG	1
B. FRAGESTELLUNG	3
C. METHODE	4
I. Allgemeines	4
1. Präparate	
2. Lösungen	
3. Substanzen	
II. Mechanogramme	6
III. Bestimmung der ^{45}Ca -Aufnahme und der Ca-Gesamtkonzentration	7
1. ^{45}Ca -Aufnahme	7
2. Bestimmung der Ca-Gesamtkonzentration	9
IV. Statistische Bearbeitung der Versuchs- ergebnisse	9
D. ERGEBNISSE	10
I. Mechanogramme zur Charakterisierung der positiv inotropen Theophyllinwirkung	10
II. ^{45}Ca -Aufnahme und Ca-Gesamtkonzentration	13
E. DISKUSSION	18
F. ZUSAMMENFASSUNG	23
G. LITERATURVERZEICHNIS	25

A. EINFÜHRUNG

Nach heutigen Vorstellungen sind bei der Kontraktionsauslösung an Herz- und Skelettmuskel Ca-Ionen entscheidend beteiligt. Man nimmt an, daß es in beiden Strukturen zur Kontraktion kommt, wenn in der Zelle ein bestimmter Schwellenwert ($10^{-7} - 10^{-6}$ M) an ionisiertem Ca überschritten wird (Ebashi u. Endo 1968; Langer 1968; Portzehl u. Mitarb. 1969). Zwischen beiden Strukturen scheinen insofern Unterschiede zu bestehen, als am Herzen während der Erregung ein Einstrom von kontraktionswirksamem Ca aus dem Extracellulärraum stattfindet (Rougier et al. 1969; Beeler u. Reuter 1970a, 1970b; Ochi 1970; Léoty et al. 1970; Ochi u. Trautwein 1971; Vitek u. Trautwein 1971), während am Skelettmuskel das zur Kontraktion notwendige Ca überwiegend aus intracellulären Strukturen freigesetzt wird (Lüttgau 1965; Nayler 1967).

Von besonderem Interesse sind Pharmaka, die in den Kopplungsprozess zwischen Erregung und Kontraktion eingreifen. Aus früheren Untersuchungen (Lit.s. Nayler 1965, 1967; Kukovetz u. Pösch 1969) ist bekannt, daß Xanthinderivate wie Coffein und Theophyllin die Kontraktionskraft am Herzmuskel verstärken. Man darf annehmen, daß diese Substanzen dadurch positiv inotrop wirken, daß sie die Menge an freien Ca-Ionen in der Zelle gegenüber dem Normalzustand erhöhen, und daß die Höhe der Kontraktion im wesentlichen davon abhängig ist, wieviel ionisiertes Ca während eines Erregungsablaufs zur Verfügung steht. Über welchen Mechanismus die genannten Pharmaka eine Steigerung der intracellulären Ca^{++} -Konzentration erreichen, läßt sich jedoch noch nicht umfassend erklären. Grundsätzlich sind folgende Möglichkeiten denkbar: 1. Erhöhung der Membranpermeabilität für Ca, 2. Zunahme der Freisetzbarkeit des intracellulären Ca und 3. Nettoaufnahme von Ca in die Herzmuskelzelle.

Um den Einfluß der Methylxanthine auf den Ca-Umsatz des Warmblüterherzens zu klären, wurden mehrfach Untersuchungen mit der

Isotopentechnik durchgeführt. Danach verstärken diese Substanzen (Nayler 1963; Guthrie u. Nayler 1967; Scholz 1971a) die Aufnahme und Abgabe von radioaktiv markiertem Ca in die bzw. aus der Myocardzelle, ohne jedoch in ausschließlich therapeutischer Dosierung die Austauschbarkeit des cellulären Ca und den Ca-Gesamtgehalt der Präparate zu beeinflussen (Scholz 1971a). Daraus ergab sich die Hypothese, daß Xanthinderivate im wesentlichen dadurch positiv inotrop wirken, daß sie den Einstrom von Ca-Ionen aus dem Extracellulärraum durch Erhöhung der Membranpermeabilität für Ca verstärken.

In dieser Hinsicht scheint die Wirkung von Theophyllin derjenigen von Adrenalin zu entsprechen (Reuter 1967; Scholz u. Reuter 1968; Vassort et al. 1969).

Durch die Isotopenversuche ließ sich jedoch nicht entscheiden, ob die Steigerung der Aktivitätsaufnahme nach Gabe von Theophyllin die Ursache oder nur die Folge einer verstärkten Kontraktion war. Elektrophysiologische Befunde erhärteten jedoch die Annahme, daß die Zunahme des Ca-Einstroms und die positiv inotrope Wirkung bei Theophyllin in kausalem Zusammenhang stehen. Die Versuche ergaben, daß bei weitgehender Ausschaltung anderer Ionenströme der Ca-Einstrom während eines Erregungsprozesses durch Theophyllin konzentrationsabhängig verstärkt wurde, und daß diese Steigerung des Ca-Einstroms mit einer Zunahme der gleichzeitig gemessenen Kontraktion parallel ging (Scholz 1971b). Mit diesen Ergebnissen steht auch in Einklang, daß die positiv inotrope Wirkung von Theophyllin durch Vorgabe von Mn-Ionen abgeschwächt wurde (Meinertz u. Scholz 1969), die den während der Erregung einfließenden Ca-Strom selektiv hemmen (Rougier u. Mitarb. 1969; Ochi 1970; Vitek u. Trautwein 1971). Die Frage, ob Theophyllin in ausschließlich positiv inotrop wirkenden Konzentrationen auch die Fraktion an in Ruhe wahrscheinlich locker gebundenem und bei Erregung freisetzbarem intracellulärem Ca durch direkten Einfluß auf das Sarkoplasmatische Retikulum oder die

Mitochondrien, die auch am Herzen als Ca-Speicher wirksam sind (Lit.s. Langer 1968), erhöht, ist bisher nicht geklärt. Dagegen darf man annehmen, daß dieser Mechanismus bei der durch die Methylxanthine in höheren Konzentrationen bewirkten Kontraktur wahrscheinlich eine entscheidende Rolle spielt (Nayler u. Hasker 1966; Weber 1968; Weber u. Herz 1968; Pretorius et al. 1969; Johnson u. Inesi 1969).

B. FRAGESTELLUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung von Theophyllin auf die ^{45}Ca -Aufnahme an schlagenden linken MSV in einer Konzentration, die maximal positiv inotrop, jedoch nicht toxisch wirkte, in Abhängigkeit von der Zeit untersucht. Dabei sollte experimentell geprüft werden, ob Theophyllin in therapeutischer Dosierung allein dadurch positiv inotrop wirkt, daß es während der Erregung den Ca-Einstrom aus dem Extracellulärraum erhöht oder ob es zusätzlich die intracelluläre Ca-Verteilung beeinflußt. Würde Theophyllin eine Verschiebung des Gleichgewichts zwischen den verschiedenen cellulären Ca-Fractionen zugunsten des ionisierten, kontraktionsauslösenden Ca bewirken, dann müßte sich dies in einer Vergrößerung der austauschbaren, d.h. der mit ^{45}Ca markierbaren, intracellulären Ca-Fraktion äußern. Um Rückschlüsse über den Markierungsgrad bzw. die Austauschbarkeit des cellulären Ca zu ermöglichen, wurden sowohl die Aktivitätsaufnahme als auch der Ca-Gesamtgehalt der Präparate gemessen. Gegenüber früheren Untersuchungen, in denen der Extracellulärraum als Inulinraum gemessen wurde, war die Versuchsdurchführung derart modifiziert, daß das extracelluläre Ca nach der Aufladung mit ^{45}Ca durch Spülen der ruhenden Vorhöfe in inaktiver, Ca- und Na-freier Cholinchloridlösung entfernt wurde.

C. METHODE

I. Allgemeines

1. Präparate

Die Versuche wurden an isolierten linken Vorhöfen von 250 – 450 g schweren Meerschweinchen beiderlei Geschlechts durchgeführt. Die Tiere wurden bei handelsüblichem Trockenfutter (Altromin) und Leitungswasser ad libitum gehalten. Die Tiere wurden durch Genickschlag getötet und aus den Carotiden entblutet. Anschließend wurden die Herzen möglichst schnell excidiert und bei Zimmertemperatur in carbogengesättigter Tyrodelösung (Lösung 1; s. Tabelle) präpariert. Die linken Vorhöfe wurden an den Vorhof-Kammergrenzen von den Ventrikeln abgetrennt und vollständig von anhängendem Bindegewebe und Gefäßen befreit. Vor Versuchsbeginn wurden die Präparate mindestens 30 min bei elektrischer Reizung (Reizgrößen s.u.) in normaler Tyrodelösung bei 35°C Badtemperatur äquilibriert.

2. Lösungen

Die Zusammensetzung der verwendeten Lösungen zeigt Tabelle 1. Die Begasung erfolgte mit Carbogen (95% O₂ + 5% CO₂; Lösung 1 u. 2) bzw. mit 100% O₂ (Lösung 3). Wenn nicht anders angegeben, betrug die Badtemperatur 35°C und der pH-Wert der Lösungen 7,4.

3. Substanzen

Als pharmakologisch wirksame Substanz wurde bei den Versuchen Theophyllin verwendet (Theophyllin wasserfrei D.A.B. 7; C.H. Boehringer Sohn, Ingelheim; Molekulargewicht 180,17). Theophyllin wurde unter vorsichtigem Erwärmen bei 50°C direkt in den Versuchslösungen gelöst. Für die Versuche mit kumulativer Dosierung wurde ebenfalls bei 50°C mit Tyrodelösung eine TheophyllinstammLösung

Tabelle 1: Zusammensetzung der Lösungen (mM/l)

	NaCl	KCl	CaCl ₂	MgCl ₂	NaH ₂ PO ₄	NaHCO ₃	Tris-Puffer ^x	Cholin-Cl	Glucose
1. Normale Tyrodelösung	137	5,4	1,8	1,05	0,42	11,9	-	-	5,5
2. Ca-arme Tyrodelösung	137	5,4	0,45	1,05	0,42	11,9	-	-	5,5
3. Spüllösung	-	5,4	-	1,05	-	-	5	146 ^{xx}	5,5

^xTris (hydroxymethyl) -aminomethan + HCl

^{xx}Lösung 3 enthielt außerdem Atropinsulfat (2×10^{-5} g/ml)

von 10^{-2} g/ml hergestellt, die unter Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors in das Versuchsbad pipettiert wurde.

Als radioaktives Isotop wurde ^{45}Ca verwendet, das als CaCl_2 mit einer spezifischen Aktivität von 12,2 – 20,0 mC/mg und in einer Reinheit von 99% von New England Nuclear (Boston, Mass., U.S.A.) bezogen wurde. Die bezogene Menge (3 mC in 0,1 ml 0,5 n HCl) wurde in 50 ml Aqua dest. gelöst. Für die ^{45}Ca -Versuche wurden jeweils 1 ml dieser Lösung der Badlösung (500 ml) hinzupipettiert. Daraus ergab sich eine spezifische Aktivität von 0,12 mC/0,45 mM Ca.

II. Mechanogramme

Die Präparate wurden mit dünnen Seidenfäden zwischen zwei Reizelektroden befestigt und in 50 ml fassenden Organbädern suspendiert. Die Badlösung konnte innerhalb weniger Sekunden ausgewechselt werden. Die elektrische Reizung erfolgte durch Rechteckimpulse (Grass Reizgerät S 6; Reizdauer 2 msec; doppelte Schwellenstromstärke; Frequenz 3 Hz). Die Spannungsentwicklung der Präparate wurde isometrisch über Dehnungsmeßstreifen (Grass FT 03) gemessen und nach Verstärkung auf Direktschreibern (Hellige Helco Scriptor) registriert. Die Vorspannung betrug 1 g.

Während der Versuche wurden die Präparate zunächst 30 min in normaler Tyrodelösung (Lösung 1) und danach für 15 min in Tyrodelösung mit 0,45 mM CaCl_2 schlagend äquilibriert. Anschließend wurde die zu untersuchende Theophyllinkonzentration zugesetzt. Theophyllin-Konzentrationswirkungsbeziehungen wurden kumulativ gewonnen, d.h. durch schrittweise Erhöhung der Konzentration auf die geforderten Werte. Die Einwirkzeit betrug jeweils 5 min. Außerdem wurde die Wirkung von Theophyllin über einen Zeitraum von 60 min bei gegebener Konzentration (5×10^{-4} g/ml) untersucht. Die Spannungsentwicklung wurde zum gewünschten Zeitpunkt nach Zugabe ausgemessen und mit den unmittelbar vor Gabe der Substanzen er-

haltenen Werten verglichen. Bei den Mechanogrammen wurde die systolische Spannung (= Kontraktion), die diastolische Spannung (= Kontraktur) und die Gesamtspannung (= Kontraktion + Kontraktur) ausgewertet, auf das Feuchtgewicht der Präparate bezogen und in g/g Feuchtgewicht angegeben.

III. Bestimmung der ^{45}Ca -Aufnahme u. der Ca-Gesamtkonzentration

Die Versuche wurden an elektrisch gereizten (Reizgrößen s.o.) linken Meerschweinchenvorhöfen durchgeführt. Wie bei den Mechanogrammen wurde Tyrodelösung mit 0,45 mM CaCl_2 verwendet (Badtemperatur 35°C).

1. ^{45}Ca -Aufnahme

Die Versuche wurden in Organbädern durchgeführt, die je 500 ml Versuchslösung enthielten und in welche die mit 1 g vorbelasteten Vorhöfe zwischen Reizelektroden eingehängt werden konnten. Vor dem Aufladen wurden die Präparate einheitlich für 30 min in normaler Tyrodelösung und danach für 15 min in Ca-arter, inaktiver Tyrodelösung schlagend äquilibriert. Anschließend wurden die Vorhöfe für verschieden lange Zeiten (5, 10, 30 und 60 min) in ^{45}Ca -haltige Tyrodelösung ohne oder mit Theophyllin umgehängt.

Am Ende der Aufladepériode wurde das extracelluläre Ca mit größter Sorgfalt entfernt. Dazu wurden die Präparate zunächst dreimal für einige Sekunden in inaktive, Ca-arme Tyrodelösung getaucht, um oberflächlich anhaftende Aktivitätsanteile zu entfernen. Danach wurden die Vorhöfe bei Zimmertemperatur ruhend 5 x 5 min in je 400 ml Na- und Ca-freier Cholinchloridlösung (s. Tabelle 1) gespült, welche mit 100% O_2 begast wurde. Unter diesen Bedingungen ist der Verlust

an intracellulärem Ca gering (Reuter u. Seitz 1968; Glitsch, Reuter und Scholz 1970).

Nach Versuchsende wurden die Präparate standardisiert abgepreßt (1,5 min zwischen Blauband-Filterpapier; Belastung 300 g). Die abgepreßten Vorhöfe wurden in vorgewogene Glasröhrchen gegeben und die Feuchtgewichte bestimmt. In einem stufenweise aufheizbaren Aluminiumblock wurden die Vorhöfe nach Zugabe von je 0,4 ml "Säuregemisch" (konz. HNO_3 + HClO_4 70%, im Verhältnis 1:1) bei Temperaturen bis zu 240°C feucht verascht. Die Veraschrückstände wurden bei ca. 80°C in 1 ml 0,1 n HCl gelöst und die erhaltene Lösung mit 2 ml abs. Äthanol verdünnt.

Zur Aktivitätsmessung (in einem Packard Tricarb-Flüssigkeits-Szintillationszähler; Meßdauer 5 min) wurden 0,5 ml dieser Lösung zu 10 ml eines Bray-Szintillationsgemisches (0,2 g Dimethyl-POPOP^x; 4,0 g PPO^{xx}; 60,0 g Naphthalin; 100 ml Methanol; 20 ml Äthylenglycol; ad 1000 ml Dioxan) gegeben; der Rest wurde zur Ca-Konzentrationsmessung (s.u.) weiterverarbeitet. Die ⁴⁵Ca-Aktivität wurde in Zerfällen/min (Dpm) bestimmt. Der Lösch-effekt wurde nach der Kanalverhältnismethode mit einem externen Standard festgestellt. Aus fünf Leerwertproben wurde bei jeder Versuchsserie der Nulleffekt bestimmt. Die in den Ansätzen gemessene ⁴⁵Ca-Aktivität wurde nach Nulleffektkorrektur auf eine Standardaktivität der Tyrodelösung von 10^4 Dpm/0,1 ml, auf das Feuchtgewicht (Dpm/100 mg FG) sowie auf den Ca-Gehalt der Präparate bezogen (Dpm/100 nÄq Ca = Spezifische Aktivität des Gewebes). Die spezifische intracelluläre Aktivität wurde in Beziehung zur spezifischen Aktivität der Tyrodelösung (= extracelluläre spezifische Aktivität) gesetzt. Der Quotient intracelluläre spezifische Aktivität

^x 1,4 bis -2- (4 Methyl-5 Phenyloxazolyl) - Benzol

^{xx} 2,5-Diphenyloxazol

$\times 100/\text{extracelluläre Aktivität}$ (= relative spezifische Aktivität) ist ein Maß für den Markierungsgrad des cellulären Ca (Klaus u. Kuschinsky 1962; Grossmann u. Furchgott 1964 a-c; Reuter 1965).

2. Bestimmung der Ca-Gesamtkonzentration

Zur Bestimmung der Ca-Konzentration im Gewebe wurde der nicht zur Aktivitätsmessung verwendete Rest (2,5 ml) des gelösten Versuchsrückstandes bei 80°C vorsichtig eingedampft. Zu den Proben wurden 2,5 ml 1% LaCl_3 -Lösung (10 g LaCl_3 gelöst in 1 l 0,1 n HCl) zupipettiert. Außerdem wurde zu jeder Versuchsserie eine Eichkurve ermittelt, die 0,02 - 0,25 $\mu\text{Äq Ca}/2,5$ ml Ansatz enthielt.

Die Ca-Proben wurden mit einem Atom-Absorption-Spectrophotometer (Perkin-Elmer 403) gemessen. Zuerst wurde die Absorption der einzelnen Eichkurvenwerte bestimmt und in ein Koordinatensystem eingetragen. In dieser Kurve konnte nun nach Messung der Absorption einer Versuchsprobe deren entsprechender Wert in $\mu\text{Äq Ca}/2,5$ ml Ansatz abgelesen und nach Umrechnung in $\text{nÄq Ca}/100$ mg FG angegeben werden.

IV. Statistische Bearbeitung der Versuchsergebnisse

Aus den Einzelwerten (N) einer Versuchsserie wurde für die Kontrollwerte und die Effekte je das arithmetische Mittel ($\bar{x}$) und der zugehörige Standardfehler des Mittelwertes ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$) errechnet. Um die Unterschiede zwischen den gefundenen Mittelwerten auf Signifikanz zu überprüfen, wurde der t-Test für unverbundene Stichproben (Snedecor 1950) durchgeführt. In Anlehnung an Veröffentlichungen ähnlicher Problematik wurde auch in der vorliegenden Arbeit die beobachtete Mittelwertdifferenz zwischen Kontrollen

und Effekten als signifikant angesehen, wenn der berechnete Prüf-
wert den für eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% tabellierten
Grenzwert (Documenta Geigy, Wissenschaftliche Tabellen, 6. Auf-
lage 1960) überstieg. Die Berechnungen wurden auf einem Wang 700
durchgeführt.

D. ERGEBNISSE

I. Mechanogramme zur Charakterisierung der positiv inotropen Theophyllinwirkung

Aus der kumulativ gewonnenen Konzentrationswirkungsbeziehung
(Abb. 1) geht hervor, daß die positiv inotrope Wirkung von
Theophyllin bei einer Konzentration von etwa 10^{-5} g/ml begann,
bei 10^{-3} g/ml ein Maximum erreichte und bei weiterer Erhöhung
der Konzentration wieder abnahm. Die Abnahme des positiv inotropen
Effektes mit zunehmender Konzentration läßt sich, wie Abb. 1 eben-
falls zeigt, zum Teil dadurch erklären, daß es bei höheren Theophyllin-
konzentrationen zu Kontrakturen kam.

Abb. 2 zeigt den zeitlichen Verlauf der Theophyllinwirkung bei einer
Konzentration von 5×10^{-4} g/ml während 60 min. Unter diesen
Bedingungen wirkte Theophyllin ausschließlich positiv inotrop und
führte zu keiner Zeit als Zeichen einer toxischen Wirkung zu
Arrhythmien oder Kontrakturen. Die Wirkung setzte sofort nach
Zugabe der Substanz ein, erreichte nach etwa 2 min ein Maximum
und fiel danach allmählich wieder ab. Die Theophyllinwirkung blieb
also über eine Versuchsdauer von 60 min nicht ganz konstant. Nach
60 min betrug aber die Spannungsentwicklung der Präparate immer
noch 219% der Ausgangslage, d.h. auch nach dieser Zeit war der
positiv inotrope Effekt noch deutlich nachweisbar.

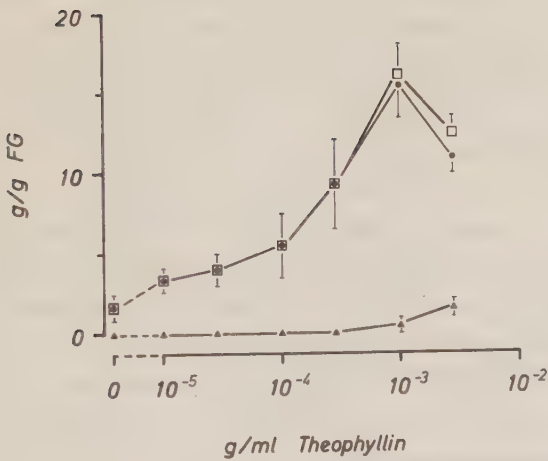


Abb. 1:

Wirkung von Theophyllin auf die Spannungsentwicklung elektrisch gereizter linker MSV. Ordinate: Spannungsentwicklung in g/g FG, gemessen nach einer Einwirkzeit von jeweils 5 min. Abszisse: Theophyllinkonzentration in g/ml, log. Maßstab. $[Ca]_e$ 0,45 mM. N=6. Kumulative Dosierung. $\square$ Gesamtspannung, $\bullet$ systolische Spannung (Kontraktion), $\blacktriangle$ diastolische Spannung (Kontraktur).

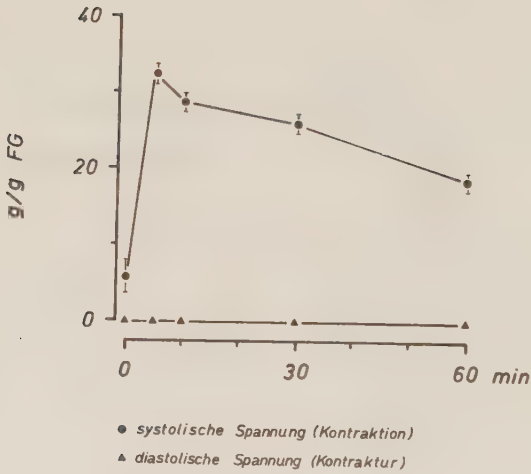


Abb. 2:

Zeitlicher Verlauf der Wirkung von Theophyllin (5×10^{-4} g/ml) auf die Spannungsentwicklung schlagender linker MSV.

Ordinate: Spannungsentwicklung in g/g FG. Abszisse: Zeit nach Theophyllinzugabe in min. N=6. $[Ca]_e$ 0,45 mM.

II. ⁴⁵Ca-Aufnahme und Ca-Gesamtkonzentration

Die ⁴⁵Ca-Aufnahme (Dpm/100 mg FG) in elektrisch gereizte MSV unter Kontrollbedingungen und unter Theophyllineinwirkung (5×10^{-4} g/ml) ist in Abb. 3 dargestellt. Hiernach nahm die radioaktive Markierung bei den Kontrollpräparaten und bei den mit Theophyllin behandelten Vorhöfen bis zur 60. min kontinuierlich zu. Unter Theophyllineinwirkung war die ⁴⁵Ca-Aufnahme im Vergleich zu den Kontrollen lediglich nach 5 min Aufladezeit signifikant erhöht. Zu einem späteren Zeitpunkt war zwischen den Kontrollvorhöfen und den mit Theophyllin behandelten Präparaten kein signifikanter Unterschied in der aufgenommenen Aktivität mehr sichtbar. Die Ca-Gesamtkonzentration (nÄq Ca/100 mg FG) änderte sich bei den Kontrollvorhöfen bis zur 30. min und bei den mit Theophyllin behandelten Präparaten über den gesamten Untersuchungszeitraum nicht signifikant (Abb. 4). Bis zur 30. min war auch zwischen den Kontrollen und den in Gegenwart von Theophyllin geprüften Vorhöfen kein signifikanter Unterschied nachweisbar. Dagegen fällt auf, daß nach einer Inkubationszeit von 60 min der Ca-Gesamtgehalt der Kontrollvorhöfe im Vergleich zu den anderen Kontrollgruppen deutlich gesteigert war. Hier war auch der Unterschied gegenüber den mit Theophyllin behandelten Vorhöfen signifikant. Für die spezifische Aktivität, bei der die aufgenommene ⁴⁵Ca-Aktivität auf den Ca-Gesamtgehalt der Präparate bezogen wird (Dpm/100 nÄq Ca), ergaben sich unter dem Einfluß von Theophyllin zu allen Zeitpunkten der Aufladung höhere Werte als unter Kontrollbedingungen (Abb. 5). Die Steigerung der spezifischen Aktivität unter Theophyllineinwirkung war jedoch nur nach 30 und 60 min signifikant. Ein wesentliches Maß für den Markierungsgrad des intracellulären Ca mit radioaktiv markiertem Ca ist die relative spezifische Aktivität;

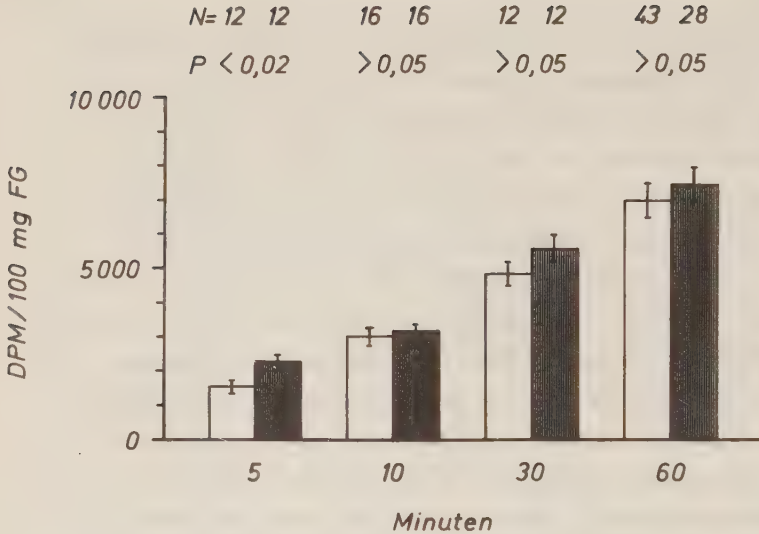


Abb. 3:

⁴⁵Ca-Aufnahme in schlagende MSV bezogen auf das Feuchtgewicht der Präparate (Ordinate: DPM/100 mg FG) gemessen nach verschieden langer Inkubationszeit (Grundlinie) in aktiver Tyrodelösung ($[Ca]_e$ 0,45 mM) unter Kontrollbedingungen (helle Säulen) und in Gegenwart von 5×10^{-4} g/ml Theophyllin (dunkle Säulen).

Über den Säulen sind die zugehörigen P-Werte sowie die jeweils verwendete Anzahl der Präparate ($N = 12-43$) angegeben. Vor dem Aufladen wurden die Vorhöfe schlagend für 30 min in inaktiver normaler Tyrodelösung ohne Theophyllin und anschließend für 15 min in inaktiver theophyllinfreier Tyrodelösung mit 0,45 mM $CaCl_2$ einheitlich äquilibriert.

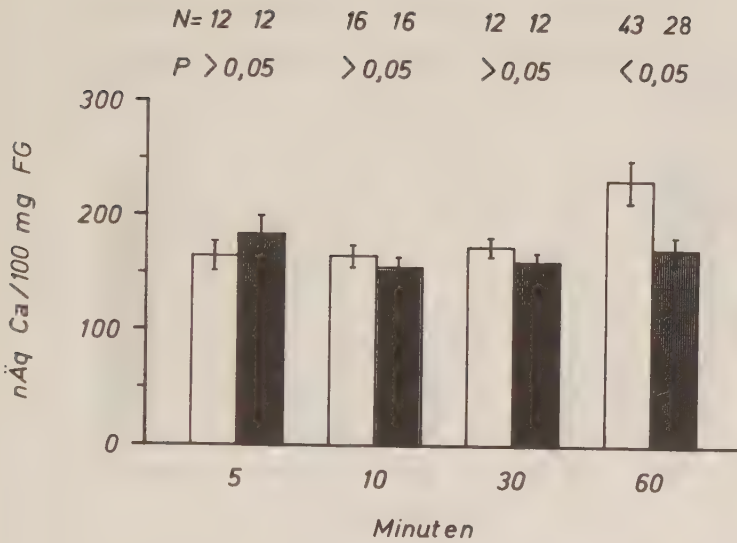


Abb. 4:

Ca-Gesamtgehalt (Ordinate : nÄq Ca/100 mg FG) von schlagenden MSV in Abhängigkeit von der Aufladedauer in aktiver Tyrodelösung (Grundlinie) unter Kontrollbedingungen (helle Säulen) und unter der Wirkung von 5×10^{-4} g/ml Theophyllin (dunkle Säulen).

[Ca]_e 0,45 mM. Gleiche Versuche wie in Abb. 3.

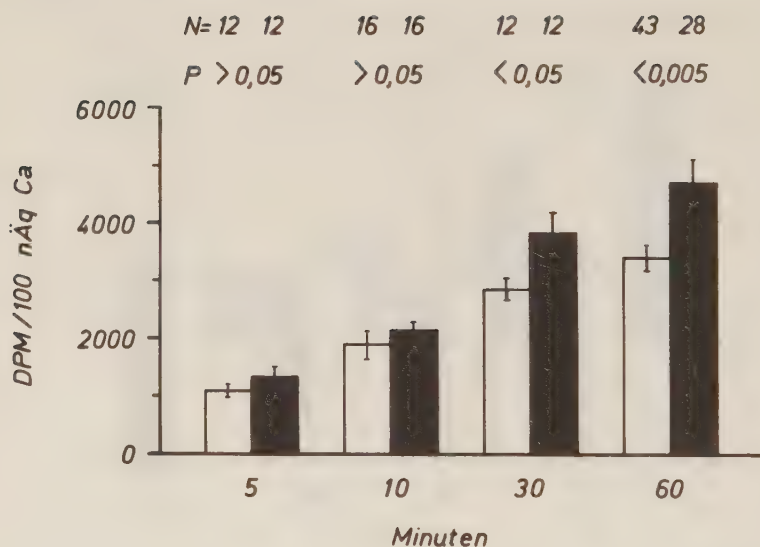


Abb. 5:

⁴⁵Ca-Aufnahme in schlagende MSV, bezogen auf die Ca-Konzentration im Gewebe (DPM/100 nÄq Ca = spezifische Aktivität; Ordinate) gemessen nach verschiedenen Aufladezeiten unter Kontrollbedingungen (helle Säulen) und in Gegenwart von 5×10^{-4} g/ml Theophyllin (dunkle Säulen).

Gleiche Versuche wie in Abb. 3 und 4.

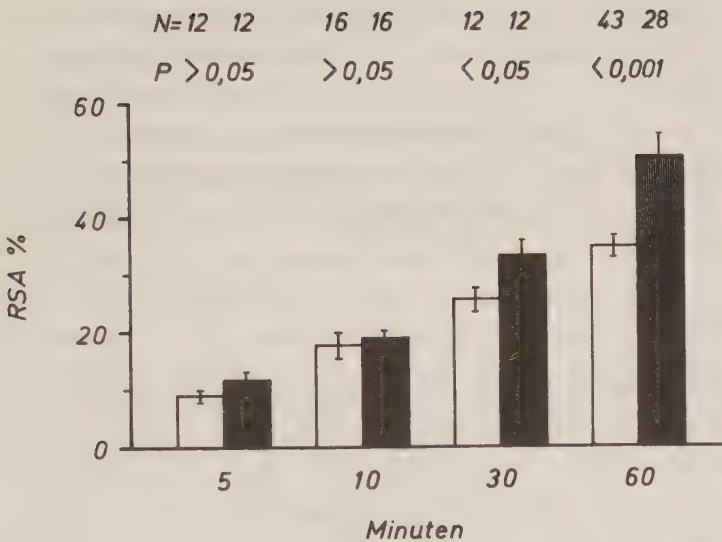


Abb. 6:

Relative spezifische Aktivität (RSA in %; Ordinate) in schlagenden MSV gemessen nach unterschiedlich langem Aufenthalt in aktiver Tyrodelösung ($[Ca]_e$ 0,45 mM) unter Kontrollbedingungen (helle Säulen) und in Gegenwart von 5×10^{-4} g/ml Theophyllin (dunkle Säulen).

Gleiche Versuche wie in Abb. 3, 4 und 5.

sie wird als prozentuales Verhältnis von spezifischer Aktivität des cellulären Ca zur spezifischen Aktivität der Aufladetyrodelösung, d.h. des extracellulären Ca berechnet (Zitate s. Methode). Die relative spezifische Aktivität wurde durch Theophyllin nach 30 und 60 min Aufladezeit gegenüber den Kontrollen signifikant gesteigert, in den ersten 10 min dagegen nicht signifikant verändert (Abb. 6). Nach 30 und 60 min Aufenthalt der schlagenden Vorhöfe in aktiver Tyrodelösung waren unter Theophyllineinwirkung 33,1% bzw. 50,6% des cellulären Ca markiert. Dies bedeutet eine Steigerung der ^{45}Ca -Aufnahme um 7,6% (30 min) und 15,8% (60 min) gegenüber den Kontrollen.

E. DISKUSSION

In der vorliegenden Arbeit wurde durch Isotopenversuche am MSV versucht, weitere Aufschlüsse über den Mechanismus der positiv inotropen Theophyllinwirkung zu erhalten. Es sei noch einmal betont, daß die Versuche mit einer ausschließlich positiv inotrop und nicht toxisch wirkenden Theophyllinkonzentration durchgeführt wurden, die nicht zu Kontrakturen führte. Dies ist eine wesentliche Voraussetzung bei der Untersuchung der "therapeutischen" Wirkung dieser Substanz.

Im folgenden sollen auch die Ergebnisse aus Untersuchungen mit Coffein über den myocardialen Ca-Haushalt mit zur Diskussion herangezogen werden, zumal die Unterschiede zwischen der Wirkung von Theophyllin und derjenigen von Coffein nur quantitativ zu sein scheinen (Kukovetz u. Pösch 1967).

Aus früheren Untersuchungen mit ^{45}Ca über die Wirkung von Theophyllin am Warmblüterherzen (Scholz 1970, 1971a) ist bekannt, daß sowohl bei den Kontrollvorhöfen als auch bei den mit Theophyllin behandelten Präparaten die Aktivitätsaufnahme innerhalb von 60 min ein Gleichgewicht erreichte. Um Aussagen über den Markierungsgrad und die Austauschbarkeit des cellulären Ca zu er-

möglichen, wurden deshalb auch in der vorliegenden Untersuchung Aufladezeiten bis zu 60 min gewählt. Da die Versuchsbedingungen gegenüber den früheren Arbeiten nur hinsichtlich der Spülperiode mit inaktiver Lösung, nicht aber in Bezug auf die ^{45}Ca -Inkubation geändert wurden, darf angenommen werden, daß auch in der vorliegenden Versuchsserie die ^{45}Ca -Aufnahme nach 60 min ein Gleichgewicht erreicht hatte.

Die vorliegende Untersuchung ergab als wesentlichstes Ergebnis, daß der Markierungsgrad des cellulären Ca unter Theophyllineinwirkung nach 30 und 60 min Aufladezeit signifikant zunahm, während er bei kürzeren Inkubationszeiten unverändert blieb.

Unter der Annahme, daß die Markierung des intracellulären Ca mit ^{45}Ca nach 60 min vollständig war, lassen die Ergebnisse folgende Deutung zu: Theophyllin bewirkt am MSV eine Zunahme der austauschbaren Ca-Fraktion, ohne jedoch einen entscheidenden Einfluß auf die Ca-Gesamtkonzentration der Präparate zu haben. Der signifikante Unterschied im Ca-Gesamtgehalt der Vorhöfe nach 60 min Aufladezeit ist lediglich darauf zurückzuführen, daß nach dieser Zeit die Kontrollwerte gegenüber den anderen Kontrollgruppen deutlich gesteigert waren, während die mit Theophyllin behandelten Präparate zu allen Zeiten annähernd gleiche Werte erreichten. Da außerdem der Ca-Gesamtgehalt der Präparate durch Theophyllin bis zur 30. min nicht signifikant gegenüber den Kontrollvorhöfen verändert wurde, darf angenommen werden, daß dem Unterschied nach 60 min Aufladezeit keine besondere Bedeutung zukommt. Somit scheidet eine Nettoaufnahme von Ca ins Gewebe als Mechanismus der Theophyllinwirkung aus. Dagegen ist eher eine Tendenz zur Abnahme der intracellulären Ca-Konzentration zu erkennen. Die Steigerung der Austauschbarkeit des cellulären Ca bedeutet, daß Theophyllin einen direkten oder indirekten Einfluß auf die intracelluläre Ca-Verteilung haben muß. Mit dieser Annahme steht in Einklang, daß zumindest

Coffein (Theophyllin wurde daraufhin noch nicht untersucht) leicht in die Muskelzelle eindringt (Bianchi 1962).

Erkenntnisse der Muskelphysiologie (Lit.s. Klaus und Kuschinsky 1962) haben gezeigt, daß das intracelluläre Ca in folgender Verteilung vorliegt: 1. eine nicht austauschende, fest an die Strukturproteine gebundene Fraktion 2. eine leicht austauschende, eventuell ionisierte Fraktion und 3. eine labile Fraktion, die im wesentlichen in den Vesikeln des SR vorzufinden ist und nur bei Erregung, nicht jedoch in Ruhe mit dem extracellulären Ca austauscht. Unter Ruhebedingungen besteht ein Gleichgewicht zwischen dem extracellulären und dem intracellulären ionisierten Ca. Während eines Erregungsablaufs wird ein Teil des labil gebundenen Ca in die ionisierte Form überführt und nimmt dann am Ca-Austausch teil. Unter Kontrollbedingungen liegt jedoch der größere Teil des cellulären Ca noch in gebundener Form vor und steht damit nicht für die Aktivierung der kontraktilen Proteine zur Verfügung. Dagegen wird unter dem Einfluß von Theophyllin auch normalerweise gebundenes Ca freigesetzt und nimmt am Austausch mit dem radioaktiv markierten Ca teil. Diese Verschiebung im intracellulären Ca-Gleichgewicht äußert sich in einer Zunahme des ionisierten, kontraktionswirksamen Ca. Somit scheint sich Theophyllin ähnlich wie die Herzglykoside zu verhalten, welche ebenfalls die austauschbare Ca-Fraktion erhöhen, ohne den Ca-Gesamtgehalt zu verändern (Klaus u. Kuschinsky 1962; Lüllmann u. Holland 1962; Klaus u. Lee 1969).

Über welchen Mechanismus Theophyllin seinen Einfluß auf die celluläre Ca-Verteilung ausübt, ist noch weitgehend ungeklärt. Grundsätzlich wäre denkbar, daß Theophyllin eine vermehrte Freisetzung von Ca aus dem SR oder aber eine Hemmung der Ca-Aufnahme in intracelluläre Bindungsstellen bewirkt. Von verschiedenen Autoren wurde in vitro an subcellulären Strukturen (SR, Mitochondrien) aus Herz- und Skelettmuskelpräparaten nachgewiesen,

daß die Methylxanthine eine Freisetzung von Ca aus dem SR und den Mitochondrien bewirken bzw. die Ca-Aufnahme in diese Strukturen hemmen (Nayler u. Hasker 1966; Carvalho u. Leo 1967; Weber 1968; Weber u. Herz 1968; Fuchs 1969; Johnson u. Inesi 1969; Pretorius et al. 1969). Wenn auch die in den zitierten Versuchen verwendeten Konzentrationen teilweise zu Kontrakturen führten, d.h. im toxischen Bereich lagen, so stehen die Ergebnisse doch mit den vorliegenden in Einklang. Hypothetisch läßt sich deshalb der Mechanismus der Theophyllinwirkung möglicherweise folgendermaßen erklären: Unter Kontrollbedingungen werden bei Erregung Ca-Ionen aus reversiblen Bindungsstellen, die im wesentlichen den Vesikeln des SR zugeordnet werden können, freigesetzt. Nach Ablauf der Erregung wird die intracelluläre Konzentration an kontraktionswirksamem Ca wieder auf den Ruhewert erniedrigt; dies geschieht einerseits durch einen Ca-Ausstrom aus der Zelle und andererseits durch eine aktive Aufnahme von Ca in intracelluläre Speicherungssysteme. Wenn nun Theophyllin die Freisetzung von Ca aus dem SR verstärkt, so stellt sich die intracelluläre Konzentration an kontraktionswirksamem Ca auf ein höheres Niveau ein, ohne jedoch den kritischen Wert von $10^{-6} - 10^{-7}$ M während der Diastole zu überschreiten. Dadurch ist bei nachfolgenden Erregungsabläufen eine Steigerung der Kontraktionskraft des Herzmuskels möglich. Die Kontraktionskraft des Herzens wird nämlich nicht nur durch die aus dem Extracellulärraum einströmenden Ca-Ionen bestimmt, sondern auch durch die Menge kontraktionswirksamer Ca-Ionen, die bereits vor Kontraktionsbeginn in der Zelle vorhanden sind (Wood et al. 1969). Hierdurch wäre auch der geringe Ca-Verlust bei den mit Theophyllin behandelten Präparaten erklärbar; da ein Gleichgewicht zwischen dem intracellulär und dem extracellulär ionisierten Ca besteht, wird celluläres, ionisiertes Ca aus der Zelle ausströmen, wenn unter dem Einfluß von Theophyllin die intracelluläre Konzentration an freien Ca-Ionen erhöht wird.

Ein Hinweis dafür, daß die Methylxanthine einen Einfluß auf die intracelluläre Ca-Verteilung haben, ist die bei höheren Konzentrationen auftretende Kontraktur (Nayler 1963; Price u. Nayler 1967; Scholz u. de Yazikof 1971). Steigt nämlich nach dem oben genannten Mechanismus die Konzentration an freien Ca-Ionen so stark an, daß auch während der Diastole der Wert von $10^{-6} - 10^{-7}$ M überschritten wird, so kann das Myokard durch das erhöhte Angebot an ionisiertem Ca nicht vollständig erschlaffen und es bleibt ein Kontraktionsrückstand bestehen.

⁴⁵Ca-Untersuchungen mit Coffein wurden auch von Guthrie und Nayler (1967) am MSV durchgeführt; dabei konnte mit 1,5 mM Coffein sowohl eine Steigerung der ⁴⁵Ca-Aufnahme als auch eine Zunahme der ⁴⁵Ca-Abgabe beobachtet werden. Daraus ergab sich die Hypothese, daß Coffein die Zellmembran für Ca^{++} durchlässiger machen und gleichzeitig eine Freisetzung von intracellulär gebundenem Ca bewirken könnte. Dem muß man jedoch entgegenhalten, daß Messungen des Ca-Gesamtgehaltes der Präparate notwendig gewesen wären, um eine Aussage über den Mechanismus einer gesteigerten ⁴⁵Ca-Aufnahme oder-Abgabe machen zu können.

In neueren Untersuchungen (Scholz 1970; 1971a) über den Einfluß von Theophyllin auf den cellulären Ca-Umsatz des MSV wurde jedoch sowohl die ⁴⁵Ca-Aufnahme als auch die Ca-Gesamtkonzentration der Präparate gemessen. Die Versuche ergaben, daß Theophyllin die Markierung des cellulären Ca mit ⁴⁵Ca beschleunigt ohne Vergrößerung der austauschbaren Ca-Fraktion und des Ca-Gesamtgehaltes. Diese Ergebnisse wurden dahingehend gedeutet, daß Theophyllin die Membranpermeabilität für Ca^{++} während des Erregungsprozesses steigert und dadurch das Angebot an kontraktionswirksamem Ca in der Zelle erhöht. Ein Einfluß der Substanz auf intracelluläre Strukturen wurde nicht ausgeschlossen, aber bei rein therapeutischen

Konzentrationen für wenig wahrscheinlich gehalten. Die vorliegenden Ergebnisse widersprechen dieser Auffassung. Eine Steigerung der Membranpermeabilität für Ca-Ionen hätte zur Folge, daß die ^{45}Ca -Aufnahme auch nach kurzen Aufladezeiten durch Theophyllin verstärkt worden wäre. Wie die Diagramme zeigen, war dies jedoch nicht der Fall. Inwieweit die unterschiedlichen Befunde auf die modifizierte Durchführung der Versuche zurückzuführen ist, muß offen bleiben. Möglicherweise wurde in der vorliegenden Versuchsanordnung durch den Spülvorgang nicht nur das extracelluläre Ca entfernt, sondern auch die intracelluläre Ca-Verteilung beeinflusst. Daher muß die hier aufgestellte Hypothese, daß die durch Theophyllin bewirkte Steigerung der Austauschbarkeit des cellulären Ca tatsächlich durch einen direkten Einfluß auf intracelluläre Strukturen zustande kommt, weiter experimentell gestützt werden.

F. ZUSAMMENFASSUNG

An isolierten, elektrisch gereizten linken MSV wurde durch Versuche mit radioaktiv markiertem Ca (^{45}Ca) der Einfluß von Theophyllin in therapeutischer Konzentration (5×10^{-4} g/ml) auf den myocardialen Ca-Haushalt in Abhängigkeit von der Zeit untersucht. Dabei wurden sowohl die Aktivitätsaufnahme als auch die intracelluläre Ca-Gesamtkonzentration bestimmt. Im Gegensatz zu früheren Untersuchungen wurde das extracelluläre Ca nach der Aufladung mit ^{45}Ca durch Spülen der ruhenden Vorhöfe in inaktiver, Ca- und Na-freier Cholinchloridlösung entfernt.

Theophyllin steigerte die mit ^{45}Ca markierbare intracelluläre Ca-Fraktion im Vergleich zu den Kontrollen nach 30 und 60 min Aufladezeit um 7,6% bzw. 15,8%. Unter Theophyllineinwirkung konnte demnach mehr celluläres Ca am transmembranösen Ca-Austausch teilnehmen als unter Kontrollbedingungen.

Aus den Ergebnissen wird geschlossen, daß Theophyllin auch im therapeutischen Konzentrationsbereich die austauschbare intracelluläre Ca-

Fraktion steigert. Es wird angenommen, daß Theophyllin an intracellulären Strukturen angreift und durch verstärkte Freisetzung von Ca aus dem SR oder anderen intracellulären Ca-Bindungsstellen die Menge an ionisiertem, kontraktionswirksamem Ca in der Zelle erhöht. Die Frage, ob dieser Effekt möglicherweise durch den Spülvorgang im Anschluß an die Aufladung mit ^{45}Ca verursacht wurde, bedarf weiterer Untersuchungen.

G. LITERATURVERZEICHNIS

BEELER, G.W., Jr. and H. REUTER:

Membrane calcium current in ventricular myocardial fibres.

J. Physiol. (Lond.) 207, 191-209 (1970a)

BEELER, G.W., Jr. and H. REUTER:

The relation between membrane potential, membrane currents and activation of contraction in ventricular myocardial fibres.

J. Physiol. (Lond.) 207, 211-229 (1970b)

BIANCHI, C.P.:

Kinetics of radiocaffeine uptake and release in frog sartorius.

J. Pharmacol. exp. Ther. 138, 41-47 (1962)

CARVALHO, A.P. and B. LEO:

Effects of ATP on the interaction of Ca^{++} , Mg^{++} , and K^{+} with fragmented sarcoplasmic reticulum isolated from rabbit skeletal muscle.

J. gen. Physiol. 50, 1327-1352 (1967)

EBASHI, S. and M. ENDO:

Calcium ion and muscle contraction.

Progr. Biophys. molec. Biol. 18, 123-183 (1968)

FUCHS, F.:

Inhibition of sarcotubular calcium transport by caffeine: species and temperature dependence.

Biochim. biophys. Acta (Amst.) 172, 566-570 (1969)

GLITSCH, H.G., H. REUTER and H. SCHOLZ:

The effect of the internal sodium concentration on calcium fluxes in isolated guinea-pig auricles.

J. Physiol. (Lond.) 209, pp. 25-43 (1970)

GROSSMAN, A. and R.F. FURCHGOTT:

The effects of external calcium concentration on the distribution and exchange of calcium in resting and beating guinea-pig auricles.

J. Pharmacol. exp. Ther. 143, 107-119 (1964a)

GROSSMAN, A. and R.F. FURCHGOTT:

The effects of frequency of stimulation and calcium concentration on Ca^{45} exchange and contractility on the isolated guinea-pig auricle.

J. Pharmacol. exp. Ther. 143, 120-130 (1964b)

GROSSMAN, A. and R.F. FURCHGOTT:

The effect of various drugs on calcium exchange in the isolated guinea-pig left auricle.

J. Pharmacol. exp. Ther. 145, 162-172 (1964c)

GUTHRIE, J.R. and W.G. NAYLER:

Interaction between caffeine and adenosine an calcium exchangeability in mammalian atria.

Arch. int. Pharmacodyn. 170, 249-255 (1967)

JOHNSON, P.N. and G. INESI:

The effect of methylxanthines and local anaesthetics on fragmented sarcoplasmic reticulum.

J. Pharmacol. exp. Ther. 169, 308-314 (1969)

KLAUS, W. und G. KUSCHINSKY:

Über die Wirkung von Digitoxigenin auf den cellulären Calciumumsatz im Herzmuskelgewebe.

Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol.

244, 237-253 (1962)

KLAUS, W. and K.S. LEE:

Influence of cardiac glykosides on calcium binding in muscle subcellular components.

J. Pharmacol. exp. Ther. 166, 68-76 (1969)

KUKOVETZ, W.R. and G. PÖCH:

The action of imidazol on the effects of methylxanthines and catecholamines on cardiac contraction and phosphorylase activity.

J. Pharmacol. exp. Ther. 156, 514-521 (1967)

KUKOVETZ, W.R. und G. PÖCH:

Zum Mechanismus der Herzwirkung von Methylxanthinen.

In: Coffein und andere Methylxanthine.

Ed. F. Heim u. H.P.T. Ammon. S. 91-108.

Stuttgart - New York: Schattauer Verlag (1969)

LANGER, G.A.:

Ion fluxes in cardiac excitation and contraction and their relation to myocardial contractility.

Physiol. Rev. 48, 708-757 (1968)

LÉOTY, C., RAYMOND, G. and Y.-M. GARGOUIL:

Evolution du courant calcique transmembranaire et de la contraction sur la fibre myocardique de Grenouille.

J. Physiol. (Paris) 62, 181 (1970)

LÜLLMANN, H. and W. HOLLAND:

Influence of ouabain on an exchangeable calcium fraction,
contractile force, and resting tension of guinea-pig atria.
J. Pharmacol. exp. Ther. 137, 186-192 (1962)

LÜTTGAU, H.C.:

Nerven- und Muskel-Elektrophysiologie.
Fortschr. Zool. 17, 272-312 (1965)

MEINERTZ, T. und H. SCHOLZ:

Über den Einfluß von Mangan-Ionen auf die positiv inotrope
Wirkung von Adrenalin, Theophyllin und Digitoxigenin an
isolierten MeerschweinchenVorhöfen.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. 265, 131-148 (1969)

NAYLER, W.G.:

Effect of caffeine on cardiac contractile activity and
radiocalcium movement.
Amer. J. Physiol. 204, 969-974 (1963)

NAYLER, W.G.:

Calcium and other divalent ions in contraction of cardiac muscle.
In: Muscle. Ed. Paul, W.M., E.E. Daniel, C.M. Kay and
G. Monckton. S. 167-184
London: Pergamon Press (1965)

NAYLER, W.G.:

Calcium exchange in cardiac muscle: a basic mechanism of
drug action.
Amer. Heart J. 73, 379-394 (1967)

NAYLER, W.G. and J.R. HASKER:

Effect of caffeine on calcium in subcellular fractions of
cardiac muscle.
Amer. J. Physiol. 211, 950-954 (1966)

OCHI, R.:

The slow inward current and the action of manganese ions in guinea-pigs myocardium.

Pflügers Arch. 316, 81-94 (1970)

OCHI, R. and W. TRAUTWEIN:

The dependence of cardiac cotraction on depolarization and slow inward current.

Pflügers Arch. 323, 187-203 (1971)

PORTZEHL, H., P. ZAORALEK and J. GAUDIN:

The activation by Ca^{2+} of the ATPase of extracted muscle fibrils with variation of ionic strength, pH and concentration of MgATP.

Biochim. Biophys. Acta (Amst.) 189, 440-448 (1969)

PRETORIUS, P.J., W.G. POHL, Ch.S. SMITHEN and G. INESI:

Structural and functional characterization of dog heart microsomes.

Circulat. Res. 25, 487-499 (1969)

PRICE, J.M. and W.G. NAYLER:

Effect of hypothermia on response of isolated rat myocardium to xanthine derivatives.

Arch. int. Pharmacodyn. 166, 390-397 (1967)

REUTER, H.:

Über die Wirkung von Adrenalin auf den cellulären Ca-Umsatz des MeerschweinchenVorhofs.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak.

251, 401-412 (1965)

REUTER, H.:

The dependence of slow inward current in Purkinje fibres on the extracellular calcium-concentration.

J. Physiol. (Lond.) 192, 479-492 (1967)

REUTER, H. and N. SEITZ:

The dependence of calcium efflux from cardiac muscle on temperature and external ion composition.

J. Physiol. (Lond.) 195, 451-470 (1968)

ROUGIER, O., G. VASSORT, D. GARNIER, Y.M. GARGOUIL
and E. CORABOEUF:

Existence and role of slow inward current during the frog atrial action potential.

Pflügers Arch. 308, 91-110 (1969)

SCHOLZ, H.:

Die Wirkung von Theophyllin auf den cellulären Ca-Stoffwechsel des Warmblüterherzens.

Experientia (Basel) 26, 864-866 (1970)

SCHOLZ, H.:

Über den Mechanismus der positiv inotropen Wirkung von Theophyllin am Warmblüterherzen. II. Wirkung von Theophyllin auf Aufnahme und Abgabe von ^{45}Ca .

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. 271, 396-409 (1971a)

SCHOLZ, H.:

Über den Mechanismus der positiv inotropen Wirkung von Theophyllin am Warmblüterherzen. III. Wirkung von Theophyllin auf Kontraktion und Ca-abhängige Membranpotentialänderungen.

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. 271, 410-429 (1971b)

SCHOLZ, H. und E. de YAZIKOF:

Über den Mechanismus der positiv inotropen Wirkung von Theophyllin am Warmblüterherzen. I. Einfluß der extracellulären Ca-, Na- und K-Konzentration und von Reserpin.

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. 271, 374-395 (1971)

SCHOLZ, H. und H. REUTER:

Über die Beziehung zwischen Membranpotential und Kontraktion
am Herzen unter dem Einfluß von Adrenalin.

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmac. exp. Path.

260, 196-197 (1968)

SNEDECOR, G.W.:

Statistical Methods.

Ames, Iowa: The Iowa State College Press (1950)

VASSORT, G., O. ROUGIER, D. GARNIER, M.P. SAUVIAT,

E. CORABOEUF and Y.M. GARGOUIL:

Effects of adrenaline on membrane inward currents during the
cardiac action potential.

Pflügers Arch. 309, 70-81 (1969)

VITEK, M. and W. TRAUTWEIN:

Slow inward current and action potential in cardiac Purkinje
fibres. The effect of Mn^{++} -ions.

Pflügers Arch. 323, 204-218 (1971)

WEBER, A.:

The mechanism of the action of caffeine on sarcoplasmic reticulum.

J. gen. Physiol. 52, 760-772 (1968)

WEBER, A. and R. HERZ:

The relationship between caffeine contracture of intact muscle and
the effect of caffeine on reticulum.

J. gen. Physiol. 52, 750-759 (1968)

WOOD, E.H., R.S. HEPPNER and S. WEIDMANN:

Inotropic effects of electric currents. I. Positive and negative
effects of constant electric currents or current pulses applied
during cardiac action potentials. II. Hypotheses: Calcium movements,
excitation-contraction coupling and inotropic effects.

Circulat. Res. 24, 409-445 (1969)

Für die freundliche Unterstützung bei der Durchführung der Versuche möchte ich Frau G. Alexander meinen Dank aussprechen. Ebenso danke ich Herrn O. Tilger für die Anfertigung der Photographien.

LEBENS LAUF

Am 19. Jan. 1947 bin ich als Sohn der Eheleute W. Müller und Anna-Maria, geb. Becker, in Laurenburg/Rhein-Lahn-Kreis geboren.

Nach dem vierten Volksschuljahr besuchte ich das Bischöfliche Willigis-Gymnasium in Mainz, wo ich am 2.3.1966 die Reifeprüfung ablegte. Anschliessend absolvierte ich meinen Wehrdienst in der Zeit vom 1.4.1966 bis 31.12.1967. Im Sommersemester 1968 nahm ich an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz das Studium der Zahnmedizin auf. Hier legte ich am 31.3.1969 das Vorphysikum und am 9.10.1970 das Physikum ab. Nach Beendigung der klinischen Semester beabsichtige ich nach dem Wintersemester 1972/73 an der Universität Mainz das Zahnmedizinische Staatsexamen abzulegen.

